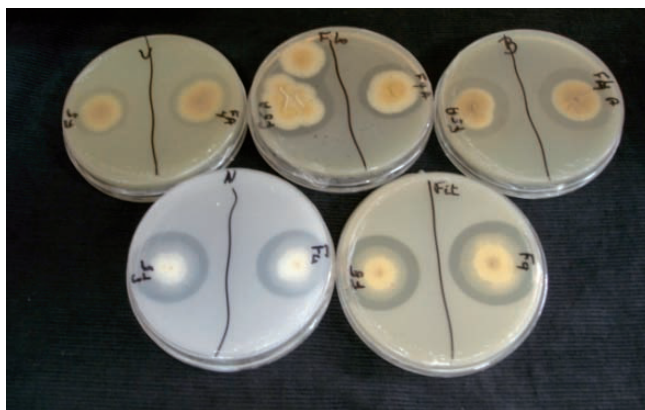


Biossolubilização de Potássio In Vitro a Partir da Rocha Fonolito por Microrganismos do Solo



Solublizadores de rochas potássicas

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

Documentos 177

Biossolubilização de Potássio In Vitro a Partir da Rocha Fonolito por Microrganismos do Solo

Ubiana Cássia Silva
Ivanildo Evódio Marriel
Christiane Abreu de Oliveira Paiva
Eliane Aparecida Gomes
Álvaro Vilela de Resende
Ubiraci Gomes de Paula Lana

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2015

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45

Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100

Fax: (31) 3027-1188

www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Antonio Claudio da Silva Barros, Cynthia Maria Borges

Damasceno, Maria Lúcia Ferreira Simeone, Monica Matoso

Campanha, Roberto dos Santos Trindade, Rosângela Lacerda de

Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa

Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto(s) da capa: Ivanildo Evódio Marriel

1ª edição

Versão Eletrônica (2015)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Milho e Sorgo

Biossolubilização de potássio in vitro a partir da rocha fonolito por microrganismos do solo / Ubiana Cássia Silva ... [et al.]. – Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015.

28 p. : il. -- (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518-4277; 177).

1. Fertilizante. 2. Processamento. 3. Fungo. 4. Bactéria. I. Silva, Ubiana Cássia. II. Série.

CDD 631.8 (21. ed.)

© Embrapa 2015

Autores

Ubiana Cássia Silva

Bióloga, M.Sc. em Microbiologia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa, doutoranda pela Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, ubiana.microb.ufmg@gmail.com

Ivanildo Evódio Marriel

Engenheiro Agrônomo, D.Sc. em Biologia Celular, Pesquisador em Microbiologia da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, ivanildo.marriel@embrapa.br

Christiane Abreu de Oliveira Paiva

Engenheira Agrônoma, D.Sc. em Biologia Vegetal, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, christiane.paiva@embrapa.br

Eliane Aparecida Gomes

Bióloga, DSc. em Genética, Pesquisadora em Microbiologia na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, eliane.a.gomes@embrapa.br

Álvaro Vilela de Resende

Engenheiro Agrônomo, D.Sc. em Solos e Nutrição de Plantas, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, alvaro.resende@embrapa.br

Ubiraci Gomes de Paula Lana

Químico, D.Sc. em Genética, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG, ubiraci.lana@embrapa.br

Apresentação

O potássio (K) é um dos nutrientes mais necessários para o desenvolvimento vegetal, contudo grande parte dos solos brasileiros apresentam baixo teor de K disponível para as plantas. Aliado a isso, a busca pelo aumento da produtividade agrícola tem estimulado o uso dos adubos potássicos. Entretanto, a produção nacional desses fertilizantes atende apenas em torno de 10% de sua demanda. Dessa forma, verifica-se a necessidade de pesquisas visando o uso de fontes alternativas brasileiras para a adubação de K que possam contribuir para a redução dos custos da produção agrícola. Neste trabalho, procurou-se avaliar, *in vitro*, o potencial de estirpes de microrganismos pertencentes à coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo quanto à biossolubilização de K a partir de rocha silicática (fonolito). Foram testados 13 isolados, sendo três bactérias e dez fungos quanto à eficiência de solubilizar o K em meio de cultura líquido contendo o pó da rocha fonolito como fonte de K. Após 10 dias de agitação sob 28 °C, os teores de K, bem como do pH, foram determinados nos sobrenadantes das culturas. Além disso, identificaram-se os isolados mais

eficientes na solubilização de K. Os resultados mostraram que a biodisponibilidade de K após 10 dias de crescimento dos microrganismos variou significativamente em função dos isolados. A bactéria estirpe B30, identificada como *Burkholderia* sp., foi a mais eficiente na solubilização de K, com incremento de 70% de solubilização em relação ao controle não inoculado. Além disso, observou-se decréscimo nos valores do pH no meio de cultura, principalmente nos tratamentos com as estirpes mais eficientes. Estes resultados sugerem que os microrganismos mais eficientes podem ser avaliados futuramente no sistema solo-planta para otimizar a biodisponibilidade de K a partir da rocha fonolito.

Antonio Alvaro Corsetti Purcino
Chefe-Geral
Embrapa Milho e Sorgo

Sumário

Introdução	7
Material e Métodos	12
Resultados e Discussão	15
Conclusão	19
Agradecimentos	19
Referências	20

Biossolubilização de Potássio In Vitro a Partir da Rocha Fonolito por Microrganismos do Solo

Ubiana Cássia Silva¹

Ivanildo Evódio Marrie²

Christiane Abreu de Oliveira Paiva³

Eliane Aparecida Gomes⁴

Álvaro Vilela de Resende⁵

Ubiraci Gomes de Paula Lana⁶

Introdução

O potássio (K) é um dos macronutrientes mais requeridos pelos vegetais, sendo o terceiro elemento mais importante para o desenvolvimento das plantas, depois apenas do nitrogênio e do fósforo (MALAVOLTA et al., 1997; ZORB et al., 2014). Este elemento auxilia no crescimento radicular, na maturação e formação dos grãos, tornando-os mais pesados e volumosos, além de favorecer a resistência das plantas às doenças (WHITE; KARLEY, 2010; ARMENGAUD et al., 2010). É essencial aos processos metabólicos, pois exerce papel na fotossíntese, regulando a abertura dos estômatos, e atua na ativação de sistemas enzimáticos. Além disso, uma adubação potássica equilibrada pode contribuir para diminuição do efeito da deficiência hídrica, o que favorece o aumento da produtividade das culturas (DALCIN, 2008).

Contudo, para garantir a produção agrícola brasileira, altas doses de K precisam ser adicionadas ao solo por meio de fertilizantes, principalmente o cloreto de potássio (KCl), o que

deixa onerosos os custos de produção. Uma desvantagem do KCl é que ele apresenta alto índice salino, podendo, em aplicações com doses elevadas, causar danos às plantas ou à semente, como cloroses, queima e perdas de produção, principalmente em períodos de seca ou com aplicação localizada (SANTOS, 2013). Do ponto de vista ambiental, nutrientes que levam cloreto em sua composição afetam a microbiota do solo, já que ele é um poderoso bactericida. A utilização do cloreto de potássio, por exemplo, foi proibida na agricultura orgânica, pois contém 45% de cloro (SANTOS et al., 2006).

Além disso, o mercado nacional de fertilizante não supre toda a necessidade dos fertilizantes potássicos, sendo preciso importar grande parte deste adubo (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2013), e neste caso, o aumento da demanda por nutrientes para garantir a sustentabilidade da produção agrícola tornou o Brasil um dos principais importadores de fertilizantes, em particular de potássio, com cerca de 91% do que se consome vindos do exterior (INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO, 2010; SANTOS, 2013). Com base na produção brasileira atual, as reservas estimadas de minério bruto como fontes de cloreto de potássio permitiriam sua exploração somente até o ano de 2017. Portanto, se faz necessária a busca de alternativas para diminuir a importação de fertilizantes potássicos (SANTOS, 2013).

Uma possibilidade para a redução do uso dos fertilizantes comerciais é a aplicação de pós de rochas que apresentam significativo teor de K. Dentre estas, encontram-se em território brasileiro em ampla distribuição as rochas dos tipos kamafugitos, flogopititos, biotititos, kimberlitos, biotita xistos, com quantidades razoáveis de flogopita ou biotita (GUIMARÃES

et al., 2006). Estas rochas potássicas podem ser encontradas na sua forma mineral de silicatos, como feldspato, mica, leucita, glauconita e illita, e na forma de sais, como a silvita, carnalita, kainita e langbeinita (PIZA et al., 2009). O teor de K nestes materiais primários varia de acordo com o material de origem e transformações que este pode ter sofrido, sendo que minerais como mica e feldspato, em geral, apresentam maiores concentrações deste elemento (MARTINS et al., 2004).

Rochas brasileiras já têm sido avaliadas como fontes alternativas para a adubação potássica, dentre elas feldspato, pó de mica, ultramáfica alcalina, verdete, biotita e flogopitita (RESENDE et al., 2006; SANTOS, 2013) e fonolito (CORTES et al., 2010). Contudo, o K presente nestas rochas não está prontamente disponível, sendo necessária a dissolução de sua estrutura cristalina. Dessa forma, a aplicação direta desses minerais no solo tem sido descartada em razão da baixa disponibilização de K para as plantas (RESENDE et al., 2006). Algumas pesquisas têm avaliado estratégias para aumentar a solubilidade de K desses minerais, dentre elas a adição do pó dessas rochas juntamente com microrganismos solubilizadores de K para aumento do suprimento deste nutriente em diversas culturas (BASAK; BISWAS, 2009; LOPES-ASSAD et al., 2010; SANTOS, 2013; ZHANG; KONG, 2014).

Muitos microrganismos do solo apresentam capacidade de solubilizar o K contido em minerais (MEENA et al., 2014; ZHANG; KONG, 2014). Estes micróbios, geralmente, compõem o grupo de microrganismos denominado promotores do crescimento vegetal (PGPM: “microorganisms promoter growth of plant”). Os PGPMs podem ser isolados da rizosfera das plantas (ZARJANI et al., 2013) ou do seu interior, no

caso dos endofíticos (LUGTENBERG et al., 2013). Vários fatores de crescimento vegetal têm sido atribuídos a estes microrganismos, diretos ou indiretos. Por exemplo, a exsudação de compostos solúveis, mobilização ou mineralização de nutrientes, decomposição da matéria orgânica, solubilização de fosfato, fixação de nitrogênio, nitrificação e produção de vários hormônios que estimulam o crescimento vegetal (PARMAR; SINDHU, 2013; VERMA et al., 2012, 2013; MEENA et al., 2014; LUGTENBERG et al., 2013).

No grupo dos microrganismos solubilizadores de K podem ser encontrados tanto bactérias (ZARJANI et al., 2013) como fungos (ROSA-MAGRI et al., 2012). Bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Acidithiobacillus*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Microbacterium*, *Agrobacterium*, *Rhizobium* já foram relatadas como solubilizadoras de K (GUNDALA et al., 2013; LIU et al., 2012; ZHANG; KONG, 2014; MEENA et al., 2015). Por exemplo, a solubilização da rocha feldspato por 27 estirpes bacterianas isoladas da rizosfera de tabaco foi avaliada por Zhang e Kong (2014). Neste trabalho, o maior teor de K liberado foi de 4,4 mg L⁻¹, sendo que a melhor estirpe solubilizadora incrementou cerca de nove vezes o teor de K no meio, comparada à rocha sem inoculação. Em outra pesquisa, envolvendo a solubilização da rocha mica, o maior valor de K liberado foi de 49.0 mg L⁻¹ (PARMAR; SINDHU, 2013). Além disso, vinte estirpes bacterianas de um total de 137 culturas avaliadas apresentaram capacidade de solubilização desta rocha (PARMAR; SINDHU, 2013). Para os fungos, os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são os mais relatados (ARGELIS et al., 1993; PRAJAPATI et al., 2012). Além destes, fungos micorrízicos podem aumentar o teor de K solúvel a partir de minerais potássicos no solo por causa

da liberação de ácidos orgânicos e prótons no meio, como já reportado por Alves et al. (2010). Todavia, a solubilização de K depende de fatores como as condições do solo, características da fonte desse elemento e do tipo de planta (CLARK; ZETO, 2000; UROZ et al., 2009).

Além dos resultados de solubilização de K *in vitro*, inúmeros trabalhos têm demonstrado o potencial dos microrganismos na liberação de K no sistema solo-planta, promovendo um maior desenvolvimento vegetal (ALVES et al., 2010; VERMA et al., 2012, 2013; ZHANG; KONG, 2014). O crescimento das raízes e da parte aérea do quiabo (*Abelmoscus esculantus*) foi atribuído à inoculação da bactéria *Enterobacter hormaechei* em solo deficiente de K. Esta estirpe também foi capaz de mobilizar K quando adicionada à rocha feldspato no solo, favorecendo a aquisição desse nutriente pela planta (PRAJAPATI et al., 2013). A inoculação de *Bacillus mucilaginosus* também propiciou uma liberação de K a partir da rocha mica e favoreceu a aquisição deste elemento pelo *Sorghum vulgare*, resultando num aumento da produção de biomassa desta planta (BASAK; BISWAS, 2009). Em outro trabalho, plantas de milho (*Zea mays*) tiveram o crescimento estimulado pela inoculação de *Bacillus mucilaginosus* quando cultivado em solo adicionado de mica. Foi constatada maior acumulação de biomassa e maior conteúdo de K nas plantas nos tratamentos inoculados com esta estirpe bacteriana (SINGH et al., 2010).

Sendo assim, a prospecção de microrganismos capazes de solubilizar K pode contribuir para o suprimento deste nutriente às plantas (ZORB et al., 2014), com baixo custo econômico e ambiental e, consequentemente, contribuindo para a competitividade da agropecuária brasileira. O objetivo deste

trabalho foi avaliar fungos e bactérias isolados de solo quanto à capacidade de solubilizar K, *in vitro*, a partir de uma rocha à base de feldspato (fonolito).

Material e Métodos

Foram avaliados 13 microrganismos isolados de solo pertencentes à Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo, sendo 10 fungos e 3 bactérias. Estes foram pré-selecionados de acordo com a triagem realizada por Guimarães et al. (2006) e Silva et al. (2008). Os microrganismos foram reativados a partir dos estoques de tubo inclinado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA: batata (200 g L⁻¹), dextrose (20 g L⁻¹) e ágar (15 g L⁻¹). Em seguida, foi avaliada a formação de halo de solubilização em meio sólido MISK (Microrganismos Solubilizadores de K) Guimarães et al., 2006 (Figura 1) com a seguinte composição para 1 litro: 5,0 mL da solução de NH₄H₂PO₄ 10%; 2 mL CaCl₂·2H₂O 1%; 2 mL MgSO₄·2H₂O 1%; 1 mL FeCl₃ 1%; Na₂MoO₄·2H₂O 0,1% e 1% do pó de rocha como única fonte de K. O pH do meio foi ajustado para 7,0.



Figura 1. Halo de solubilização/hidrólise por microrganismos em meio sólido contendo rocha silicática fonolito como fonte de K.

A capacidade de biossolubilização da rocha fonolito (K₂O 8,0%) pelos microrganismos foi avaliada em frascos de 50

mL contendo meio de cultura líquido MISK. O pH do meio foi ajustado para 7,0. Como inóculo, foram utilizados 500 µL de suspensão bacteriana em cada frasco e, no caso dos fungos, 5 discos de micélio de 8 mm de diâmetro. Os tratamentos foram realizados em triplicatas, constituídos de cada estirpe e da rocha fonolito. Foi adicionado um tratamento controle contendo somente a rocha. O fonolito é caracteristicamente uma rocha alcalina, do tipo vulcânica insaturada em sílica, o que é manifestado pela presença de feldspatoides, e se encontra distribuída pelo Brasil, principalmente em Poços de Caldas, Estado de Minas Gerais (SANTOS, 2013).

Após 10 dias de incubação sob agitação a 120 rpm e temperatura de 28 °C, o meio de cultura foi centrifugado a 10.000 g e filtrado em filtro de papel whatman nº 42. O teor de K foi determinado a partir do filtrado por espectrofotometria de chama e o pH foi aferido no meio de cultura por potenciômetro. O K biodisponibilizado por cada microrganismo foi calculado com base na diferença do teor de K (mg L⁻¹) disponível em cada amostra inoculada pelo valor de K no controle. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade utilizando-se o programa Sisvar.

Em seguida, realizou-se a identificação dos microrganismos mais eficientes na solubilização de K. Para bactéria, a identificação foi baseada no sequenciamento da região do gene ribossomal 16S. O DNA genômico foi extraído pelo método de Pitcher et al. (1989). Em seguida, amplificou-se a região do rDNA utilizando os “primers” universais 8F e 907R (LANE et al., 1991). A reação da PCR foi realizada para um volume final de 50 µL, contendo 60 ng de DNA, 1 X Tampão, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM

dNTPs, 0.5 μ M primers, e .5 U of Taq DNA polymerase (Sinapse, Brazil). A amplificação foi realizada em termociclador, com desnaturação a 94 °C por 4 minutos, seguida de 30 ciclos de 94 °C por 1 minuto, anelamento a 55 °C por 1 minuto, extensão a 72 °C por 2 minutos e extensão final conduzida a 72 °C por 10 minutos. Os produtos da amplificação da PCR foram purificados e sequenciados utilizando-se o kit Big Dye (Applied Biosystems, Foster City, CA), sendo a reação constituída de 10 ng de DNA, 1,6 μ L do tampão 5X, 0,8 μ L do Big Dye e 1 μ L de primer (5 μ M). A reação foi amplificada a 96 °C por 20 segundos, 55 °C por 15 segundos, 60 °C por 4 minutos, repetidos por 30 vezes cada. Os produtos da reação foram sequenciados no sequenciador automático ABI Prism 3730® (Applied Biosystems). As sequências foram editadas e comparadas com sequências depositadas no banco de dados GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) utilizando-se o programa Blast N (ALTSCHUL et al., 1997).

Para o grupo de fungos, a identificação foi feita até o nível de gênero, de acordo com as características macromorfológicas e micromorfológicas da cultura, no laboratório de Fitopatologia da Embrapa Milho e Sorgo. Cultivos monospóricos dos fungos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de Batata Dextrose Ágar (BDA) e incubados a 25 °C, no escuro, por 4 dias, para observação da taxa de crescimento e morfologia das colônias. As características micromorfológicas avaliadas foram: presença de conídios, coloração dos esporos e do micélio; presença de clamidósporos; presença de microconídios. As estruturas vegetativas foram comparadas com descrições na literatura (KLICH, 2002).

Resultados e Discussão

Os resultados de solubilização da rocha fonolito e alteração do pH no meio de cultura em função dos isolados testados apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). A estirpe B30 foi identificada como pertencente ao gênero *Burkholderia* sp. Esta estirpe foi a mais eficiente na solubilização de K, liberando 38 mg L⁻¹ em 10 dias de fermentação, comparada a um grupo de 10 fungos e 3 bactérias. Este valor correspondeu a um incremento de 70% no teor de K no meio de cultura após 10 dias de incubação em relação à amostra controle, sem microrganismos (Figura 2). Estirpes bacterianas solubilizadoras de K a partir de diferentes rochas já têm sido relatadas (BASAK; BISWAS, 2009; PARMAR; SINDHU, 2013; ZHANG; KONG, 2014). Rizobactérias de tabaco, por exemplo, foram detectadas com potencial para biossolubilização de K de pó de mica. Destas, as seis estirpes com maior eficiência de solubilização liberaram entre 28 e 49 mg L⁻¹ de K (PARMAR; SINDHU, 2013). Estirpes de *Bacillus edaphicus* também apresentaram capacidade de solubilização de K das rochas illito e feldspato, sendo que todas as estirpes solubilizaram melhor a rocha illito do que a feldspato, chegando a diferenças de 30% de K liberado a mais da rocha illito (SHENG; HE, 2006). Em outro trabalho, na solubilização da rocha feldspato, as estirpes bacterianas disponibilizaram apenas de 0,59 a 4,4 mg L⁻¹ de K (ZHANG; KONG, 2014). Estes resultados evidenciam que a mineralogia e a composição química das rochas podem influenciar a capacidade de solubilização microbiana (FRIEDRICH et al., 2004; SHENG; HE, 2006; MENDES et al., 2013).

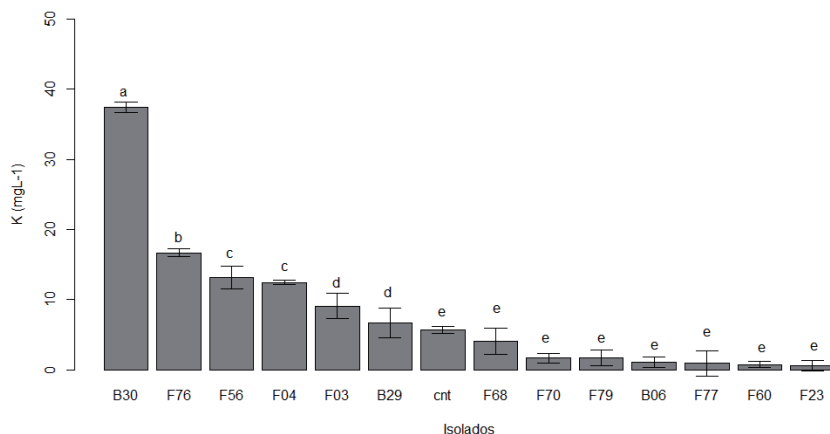


Figura 2. Solubilização de K (mg L⁻¹) após 10 dias de fermentação em meio de cultura contendo o pó de rocha fonolito com fonte única de K. Médias de três repetições com barra de erro padrão da média e teste de média Scott-Knott ($p < 0,05$). Nas barras, os isolados de fungos (F60 a F56) e de bactéria (B30); C, o controle sem inoculação, contendo somente o pó de rocha. Médias com mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$)

No grupo de fungos, alguns isolados apresentaram capacidade de solubilização intermediária, variando de 8 a 17 mg L⁻¹ de K. O isolado F76 (*Aspergillus* sp) foi o mais eficiente, disponibilizando cerca de 30% de K no meio. Prajapati et al. (2012) também investigaram o potencial de solubilização de 2 estirpes fúngicas, ambas pertencentes ao gênero *Aspergillus*, nas rochas silicato de alumínio e feldspato, sendo liberado em torno de 24 e 26 mg L⁻¹ de K, respectivamente. O fungo *Aspergillus fumigatus* foi relatado como eficiente solubilizador de K a partir de rocha potássica por Lian et al. (2008). Estes verificaram ainda que a solubilização aumentou com o contato direto entre as células fúngicas e a rocha. Lopes-Assad et al. (2010) avaliaram o potencial de solubilização da rocha

ultramáfica de duas espécies de *Aspergillus niger* isoladas de vinhaça de cana-de-açúcar e pertencentes à coleção de culturas tropicais do Brasil. Ambas as estirpes solubilizaram o K, incrementando 62% e 70% deste elemento num período de 35 dias.

Os valores de pH no meio de cultura ao final do processo de solubilização de K variaram de 5,2 a 7,3 (Figura 3) sendo que a bactéria mais eficiente na liberação de K da rocha fonolito apresentou o menor valor de pH ($p < 0,05$). De modo geral, ocorreu uma alta correlação negativa (-0,8) entre a liberação de K no meio de cultura e a redução do pH. Lopes-Assad et al. (2010) também verificaram a diminuição dos valores de pH nos ensaios de solubilização de K a partir da rocha ultramáfica. Vários estudos têm demonstrado que a redução do pH no meio em função da produção de ácidos orgânicos constitui o principal mecanismo para biossolubilização de minerais de rocha, dentre elas as potássicas (LIAN et al., 2008; BIN et al., 2010; MEENA et al., 2014, 2015). Os ácidos orgânicos oxálico, tartárico, glucônico, cítrico, málico e succínico são os mais liberados durante a solubilização de K (SHENG; HE, 2006; PRAJAPATI et al., 2012). Os mecanismos de solubilização de K por via microbiana ainda não são totalmente esclarecidos. Também é pequeno o número de trabalhos que investigam tais fatores no processo de solubilização de K (MEENA et al., 2014, 2015). Atualmente, a produção de ácidos orgânicos pelos microrganismos é a principal via que tem se correlacionado com o aumento na disponibilização deste elemento a partir de rochas. Os ácidos oxálico, tartárico, glucônico, 2-ketoglucônico, cítrico, málico e succínico (ZARJANI et al., 2013; PRAJAPATI et al., 2012; PRAJAPATI; MODI, 2012) já foram detectados nos sistemas de solubilização de K. Durante a solubilização de

feldspato e de illito por estirpes de *Bacillus edaphicus*, por exemplo, foram detectados os ácidos oxálico e tartárico, nas concentrações de 188 e 119 mg L⁻¹ na rocha fedspato e de 192 e 148 mgL⁻¹ na rocha illito, respectivamente (SHENG; HE, 2006). A atuação dos ácidos orgânicos na solubilização de K pode estar relacionada à capacidade de acidificação do meio, à formação de complexos com os cátions que estão ligados ao K e à quelação de íons por meio dos grupos hidroxila e carboxila presentes na estrutura do ácido orgânico (SAGOE et al., 1998; VASSILEV et al., 2013).

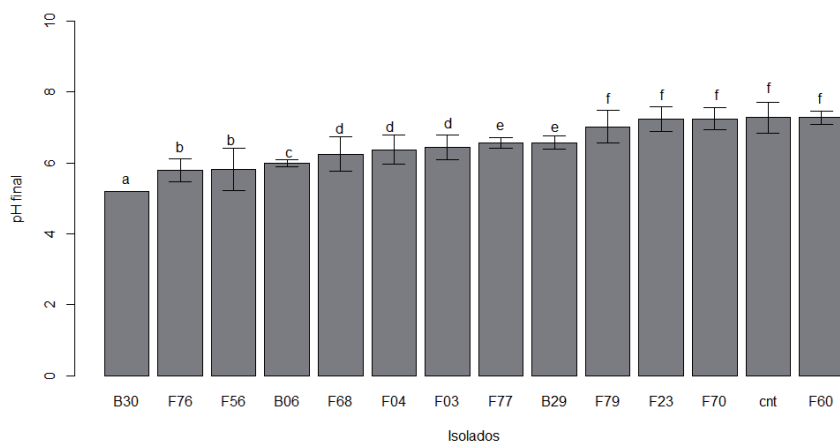


Figura 3. Variação do pH no meio de cultura após 10 dias de fermentação em meio de cultura contendo o pó de rocha fonolito como única fonte de potássio. Médias de três repetições com barras representando o erro padrão e teste de média Scott-Knott ($p < 0,05$). Nas barras, os isolados de fungos (F60 a F56) e de bactéria (B30); C, o controle sem inoculação, contendo somente o pó de rocha. Médias com mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$)

Neste trabalho, ficou evidente a imobilização de K pelos isolados F60, F70, F77 e F79, dado que os teores de K dessas estirpes foram menores do que o controle. Arbieto (2005) também observou imobilização de K por 80% dos microrganismos avaliados. O autor atribuiu esse fato à alta concentração inicial de K presente na fonte utilizada para a constituição do meio, o que poderia ter inibido os mecanismos de solubilização. Este fato também foi relatado por Nahas e Assis (1992) e Silva Filho e Vidor (2001).

Conclusão

Houve correlação entre a diminuição do pH e o aumento da solubilização de K. Sendo que a acidificação do meio promovida pela estirpe B30-*Burkholderia* aumentou a disponibilização de K em 70% a partir da rocha fonolito. O fungo F76-*Aspergillus* também incrementou o teor de K cerca de 30% em relação ao controle contendo somente rocha. Dessa forma, trabalhos futuros podem ser realizados visando avaliar o potencial destes microrganismos na disponibilização de K a partir de rochas no sistema solo-planta. Uma vez confirmado seu desempenho na disponibilização de K, estes microrganismos têm potencial de utilização juntamente com a rocha numa adubação alternativa para suprimento deste nutriente.

Agradecimentos

À Fapemig, ao CNPq e à Embrapa pelo apoio financeiro.

Referências

ALVES, L.; OLIVEIRA, V. L.; SILVA FILHO, G. N. Utilization of rocks and ectomycorrhizal fungi to promote growth of eucalypt. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 41, p. 676-684, 2010.

ARBIETO, E. A. M. de. **Biodisponibilização de nutrientes de rochas por microorganismos do solo**. 2005. 81 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

ARGELIS, D. T.; GONZALA, D. A.; VIZCAINO, C.; GARTIA, M. T. Biochemical mechanism of stone alteration carried out by filamentous fungi living in monuments. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 19, p. 129-147, 1993.

ARMENGAUD, P.; BREITLING, R.; AMTMANN, A. Coronatine-intensive 1 (COI1) mediates transcriptional responses of *Arabidopsis thaliana* to external potassium supply. **Molecular Plant**, v. 3, p. 390-405, 2010.

ALTSCHUL, S. F.; MADDEN, T. L.; SCHÄFFER, A. A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D. J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, London, v. 25, n. 17, p. 3389-3402, 1997.

BASAK, B. B.; BISWAS, D. R. Influence of potassium solubilizing microorganism (*Bacillus mucilaginosus*) and waste mica on potassium uptake dynamics by sudan grass (*Sorghum vulgare* Pers.) grown under two Alfisols. **Plant and Soil**, The Hague, v. 317, p. 235-255, 2009.

BIN, L.; BIN, W.; MU, P.; LIU, C.; TENG, H. H. Microbial release of potassium from K-bearing minerals by thermophilic fungus *Aspergillus fumigatus*. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, London, v. 72, n. 1, p. 87-98, 2010.

CLARK, R. B.; ZETO, S. K. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 23, n. 7, p. 867-902, 2000.

CORTES, G. de P.; FERREIRA, R. C.; CORTES, G. de P.; RAMPAZZO, L.; FERREIRA, L. C. Fonolito como substituto do cloreto de potássio e/ou outras fontes de potássio na agricultura e pecuária no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ROCHAGEM, 1., 2009, Brasília, DF. **Anais...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. p. 75-83.

DALCIN, G. **Seleção de microrganismos promotores da disponibilidade de nutrientes contidos em rochas, produtos e rejeitos de mineração**. 2008. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

FRIEDRICH, S.; PLATONOVA, N. P.; KARAVAIKO, G. I.; STICHEL, E.; GLOMBITZA, F. Chemical and microbiological solubilization of silicates. **Acta Biotechnologica**, Berlin, v. 11, p. 187-196, 2004.

GUIMARÃES, P. S.; LUCIO, C. H.; SOARES, E. M.; NONATO, L. V.; COELHO, A. M.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E. Liberação de potássio de rocha silicática brecha alcalina influenciada pelo genótipo de fungo, in vitro. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 26.; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA-DO-CARTUCHO, SPODOPTERA FRUGIPERDA, 2.; SIMPÓSIO SOBRE COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA, 1., 2006,

Belo Horizonte. **Inovação para sistemas integrados de produção:** trabalhos apresentados. [Sete Lagoas]: ABMS, 2006. 1 CD-ROM.

GUNDALA, P. B.; CHINTHALA, P.; SREENIVASULU, B. A new facultative alkaliphilic, potassium solubilizing, *Bacillus* Sp. SVUNM9 isolated from mica cores of Nellore District, Andhra Pradesh, India. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 2, p. 1-7, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO. **Informações e análises da economia mineral brasileira**. 5. ed. Brasília, 2010. Disponível em: <<http://www.ibram.org.br/sites/1300/1382/00001150.pdf>>. Acesso em: 05 maio 2015.

KLICH, M. A. **Identification of common *Aspergillus species***. Springfield: United States Department of Agriculture Agricultural Research Service, 2002. 116 p.

LANE, D. J. 16S/23S rRNA sequencing. In: STACKEBRANDT, E.; GOODFELLOW, M. (Ed.). **Nucleic acid techniques in bacterial systematics**. New York: John Wiley and Sons, 1991. p. 115-175.

LIAN, B.; WANG, B.; PAN, M.; LIU, C. Q.; TENG, H. H. Microbial release of potassium from K-Bearing minerals by thermophilic fungus *Aspergillus fumigatus*. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, London, v. 72, p. 87-98, 2008.

LIU, D.; LIAN, B.; DONG, H. Isolation of *Paenibacillus* sp. and assessment of its potential for enhancing mineral weathering. **Geomicrobiology Journal**, v. 29, p. 413-421, 2012.

LOPES-ASSAD, M.; AVANSINI, S. H.; ROSA, M. M.; CARVALHO, J. R. P.; ANTONINI, S. R. C. The solubilization of potassium-bearing rock powder by *Aspergillus niger* in small-scale batch fermentations. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 56, p. 598-605, 2010.

LUGTENBERG, B. J. J.; Malfanova, N.; KAMILOVA, F.; BERG, G. Plant growth promotion by microbes. In: BRUIJIN, F. J. (Ed.). **Molecular microbial ecology of the rhizosphere**. New York: John Wiley & Sons, 2013. v. 1/2, p. 559-573.

MARTINS, R.; MELO, V. F.; SERRAT, B. M. Reserva mineral de potássio em solos dos Campos Gerais, estado do Paraná. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 51, p. 521-533, 2004.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1997. 308 p.

MEENA, V. S.; MAURYA, B. R.; VERMA, J. P. Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils? **Microbiological Research**, Jena, v. 169, n. 5/6, p. 337-347, 2014. doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.003.

MEENA, V. S.; MAURYA, B. R.; VERMAC, J. P.; AEROND, A.; KUMARA, A.; KIM, K.; BAJPAI, V. K. Potassium solubilizing rhizobacteria (KSR): isolation, identification, and K-release dynamics from waste mica. **Ecological Engineering**, Oxford, v. 81, p. 340-347, 2015.

MENDES, G. O.; VASSILEV, N. B.; BONDUKI, V. H. A.; SILVA, I. R.; RIBEIRO, J. I. Inhibition of *Aspergillus niger* phosphate

solubilization by fluoride released from rock phosphate. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 79, p. 4906-4913, 2013.

NAHAS, E.; ASSIS, L. C. Efeito da concentração de fosfato na solubilização de fluorapatita por *Aspergillus niger*. **Revista Brasileira de Microbiologia**, São Paulo, v. 23, p. 37-42, 1992.

NASCIMENTO, M.; LOUREIRO, F. E. L. **Fertilizantes e sustentabilidade**: o potássio na agricultura brasileira, fontes e rotas alternativas. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2004. 66 p. (Série Estudos e Documentos, 61).

NUBEL, U.; ENGELN, B.; FELSKE, A.; SNAIDR, J.; WIESHUBER, A.; AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; BACKHAUS, H. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 178, p. 5636-5643, 1996.

OLIVEIRA JÚNIOR, A.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F. A.; JORDÃO, L. T. Adubação potássica da soja: cuidados no balanço de nutrientes. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 143, p. 1-10, set. 2013.

PARMAR, P.; SINDHU, S. S. Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions. **Journal of Microbiology Research**, v. 3, n. 1, p. 25-31, 2013.

PITCHER, D. G.; SAUNDERS, N. A.; OWEN, R. J. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 8, p. 151-156, 1989.

PIZA, P. A. T.; FRANÇA, S. C. A.; BERTOLINO, L. C. Verdete do Cedro de Abaeté (MG) como fonte alternativa para potássio. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 17., 2009, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Centro de Tecnologia Mineral, 2009. p. 192-198. Disponível em: <http://www.cetem.gov.br/publicacao/serie_anais_XVII_jic_2009/Patricia_dAlmeida_de_Toledo_Piza.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2015.

PRAJAPATI, K. B.; MODI, H. A. Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria from ceramic industry soil. **CIBTech Journal of Microbiology**, v. 1, n. 1/2, p. 8-14, 2012.

PRAJAPATI, K.; SHARMA, M. C.; MODI, H. A. Growth promoting effect of potassium solubilizing microorganisms on *Abelmoscus esculantus*. **International Journal of Agricultural Sciences**, v. 3, p. 181-188, 2013.

PRAJAPATI, K. B.; SHARMA, M. C.; MODI, H. A. Isolation of two potassium solubilizing fungi from ceramic industry soils. **Life Sciences Leaflets**, v. 5, p. 71-75, 2012.

RESENDE, A. V.; MARTINS, E. S.; OLIVERA, C. G.; SENA, M. C.; MACHADO, C. T. T.; KIMPARA, J. D.; OLIVEIRA FILHO, E. C. Suprimento de potássio e pesquisa de uso de rochas “in natura” na agricultura brasileira. **Espaço e Geografia**, Brasília, v. 9, n. 1, p. 19-42, 2006.

ROSA-MAGRI, M. M.; AVANSINI, S. H.; LOPES-ASSAD, M. L. P.; TAU-K-TORNISIELO, S. M.; CECCATO-ANTONINI, S. R. Release of potassium from rock powder by the yeast *torulaspora globosa*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 55, p. 577-582, 2012.

SAGOE, C. I.; ANDO, T.; KOUNO, K.; NAGAOKA, T. Relative importance of protons and solution calcium concentration in phosphate rock dissolution by organic acids. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 44, p. 617-625, 1998.

SANTOS, L. V. dos; POLIVANOV, H.; ALAMINO, R. de C. J.; SILVA, V. H. G. da. Adsorção de cloreto e potássio em solos tropicais. **Anuário do Instituto de Geociências**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 2, p. 101-121, 2006.

SANTOS, D. da S. **Rochagem como alternativa para fornecimento de potássio para as culturas**. 2013. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

SHENG, X. F.; HE, L. Y. Solubilization of potassium-bearing minerals by a wild type strain of *Bacillus edaphicus* and its mutants and increased potassium uptake by wheat. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 52, p. 66-72, 2006.

SINGH, G.; BISWAS, D. R.; MARWAH, T. S. Mobilization of potassium from waste mica by plant growth promoting rhizobacteria and its assimilation by maize (*Zea mays*) and wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 33, p. 1236-1251, 2010.

SILVA, U. C.; SILVA, P. G.; ADELÁRIO, F. M. S.; OLIVEIRA, A. C. de; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E. Isolamento e caracterização de bactérias isoladas de pó de rocha quanto à liberação de potássio in vitro. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 27.; SIMPOSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA-DO-CARTUCHO, SPODOPTERA FRUGIPERDA, 3.; WORKSHOP

SOBRE MANEJO E ETIOLOGIA DA MANCHA BRANCA DO MILHO, 2008, Londrina. **Agroenergia, produção de alimentos e mudanças climáticas: desafios para milho e sorgo: trabalhos e palestras.** [Londrina]: IAPAR; [Sete Lagoas]: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 1 CD-ROM.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Atividade de microrganismos solubilizadores de fosfatos na presença de nitrogênio, ferro, cálcio e potássio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1495-1508, 2001.

UROZ, S.; CALVARUSO, C.; TURPAULT, M. P.; FREY-KLETT, P. Mineral weathering by bacteria: ecology, actors and mechanisms. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 17, p. 378-387, 2009.

VASSILEV, N.; MENDES, G.; COSTA, M.; VASSILEVA, M. Biotechnological tools for enhancing microbial solubilization of insoluble inorganic phosphates. **Geomicrobiology Journal**, v. 31, p. 751-763, 2013.

VERMA, J. P.; YADA, V. J.; TIWARI, K. N. Enhancement of nodulation and yield of chickpea by co-inoculation of indigenous *Mesorhizobium* spp. and plant growth promoting rhizobacteria in eastern Uttar Pradesh. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 43, p. 605-621, 2012.

VERMA, J. P.; YADAV, J.; TIWARI, K. N.; KUMAR, A. Effect of indigenous *Mesorhizobium* spp. and plant growth promoting rhizobacteria on yields and nutrients uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under sustainable agriculture. **Ecological Engineering**, Oxford, v. 51, p. 282-286, 2013.

ZARJANI, J. K.; ALIASGHARZAD, N.; OUSTAN, S.; EMADI, M.; AHMADI, A. Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria in some Iranian soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 77, p. 75-89, 2013. <http://dx.doi.org/10.1080/03650340.2012>.

ZHANG, C.; KONG, F. Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from tobacco rhizospheric soil and their effect on tobacco plants. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 82, p. 18-25, 2014.

ZORB, C.; SENBAYRAM, M.; PEITER, E. Potassium in agriculture: status and perspectives **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 171, n. 9, p. 656-669, 2014.

WHITE, P. J.; KARLEY, A. J. Potassium. In: HELL, R.; MENDEL, R. R. (Ed.). **Cell biology of metals and nutrients, plant cell monographs**. Berlin: Springer, 2010. p. 199-224.



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

